FACULTATEA DE MEDICINĂ DIN BUCUREȘTI

No. 1942

CONTRIBUȚIUNI
LA
STUDIUL BACILULUI Z
IN TUSEA CONVULSIVĂ

(LUCRARE FĂCUTĂ ÎN LABORATORUL CLINICII INFANTILE)

TEZA

PENTRU DOCTORAT IN MEDICINĂ ȘI CHIRURGIE

Lucrare prezentată și susținută la 21 Iunie 1923

DE

CONSTANȚA STERESCU

BUCUREȘTI

«POPORUL», INSTITUT DE ARTE GRAFICE, LIBRĂRIE ȘI EDITURĂ
N. C. GEORGESCU
39, BULEVARDUL ELISABETA, 39

FACULTATEA DE MEDICINĂ DIN BUCUREŞTI

No. 1942

CONTRIBUŢIUNI
LA
STUDIUL BACILULUI Z
IN TUSEA CONVULSIVĂ

(LUCRARE FĂCUTĂ ÎN LABORATORUL CLINICII INFANTILE)

TEZA

PENTRU DOCTORAT IN MEDICINĂ ŞI CHIRURGIE

Lucrare prezentată şi susţinută la 21 Iunie 1923

DE

CONSTANŢA STERESCU

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

INSTITUTUL MEDICO-FARMACEUTIC
BIBLIOTECA C
Invent. Nr. 706 235

BUCUREŞTI

«POPORUL», INSTITUT DE ARTE GRAFICE, LIBRĂRIE ŞI EDITURĂ
N. C. GEORGESCU
39, BULEVARDUL ELISABETA, 39

Decan : D-nul Prof. Dr. Ionescu Thoma

Profesori Titulari :

Clinica II-a chirurgicală. . . . . D-l Dr. *Angelescu C.*
Chimia medicală. . . . . » » *Athanasescu N.*
Clinica chirurgicală infantilă și ortopedie. . . » » *Bălăcescu I.*
Anatomia patologică . . . . . } » » *Babeș V.*
Bacteriologia și patologia experimentală . . }
Istologia normală și Istogeneza . . . . . » » *Besnea St.*
Medicina experimentală. . . . . » » *Cantacuzino I.*
Clinica ginecologică . . . . . » » *Daniel C.*
Clinica II-a medicală. . . . . » » *Danielopol D.*
Anatomia topografică II . . . . . » » *Gerota D.*
Farmacia chimică și galenică . . . . . » » *Georgescu M.*
Clinica și teoria obstetricală. . . . . » » *Gheorghiu N.*
Anatomia topografică I } » » *Ionescu Th.*
Clinica I chirurgicală }
Clinica III-a medicală . . . . . » » *Ionescu D.*
Clinica III-a chirurgicală . . . . . » » *Juvara E.*
Clinica boalelor căilor urinare . . . . . » » *Jianu A.*
Farmacologia și materia medicală. . . . . » » *Lalu S.*
Clinica boalelor oto-rino-laringologice . . . . » » *Mețianu N.*
Clinica boalelor nervoase . . . . . » » *Marinescu Gh.*
Chimia analitică . . . . . » » *Minovici Șt.*
Clinica infantilă. . . . . » » *Manicatide M.*
Igiena și poliția sănitară . . . . . » » *Mezincescu D.*
Medicina legală . . . . . » » *Minovici M.*
Oftalmologia și clinica oftalmologică . . . . » » *Manolescu D.*
Clinica I.a medicală . . . . . » » *Nanu-Muscel I.*
Clinica dermatologică și sifiligrafică. . . . . » » *Nicolau St.*
Clinica mentală . . . . . » » *Obregia Al.*
Fiziologia umană . . . . . » » *Paulescu N.*
Patologia generală. . . . . » » *Proca Gh.*
Anatomia descriptivă și embriologia . . . . » » *Rainer Fr.*
Zoologia medicală . . . . . » » *Sihleanu St.*
Botanica medicală . . . . . » » *Solacolu T.*
Patologia medicală. . . . . » » *Thomescu I. Th.*
Clinica terapeutică. . . . . » » *Theohari A.*
Analiza alimentelor și băuturilor . . . . . » » *Vintilescu I.*

PROFESOR AGREGAT

Medicină operatoare . . . . . D-l Dr. *Constantinescu C.*

JURIUL DE PROMOȚIUNE

Președinte: D-l Prof. Dr. MANICATIDE M.

Membrii:
D-l Prof. Dr. Babeș V.
„ „ „ Proca Gh.
„ Docent Dr. Crăciuneanu
„ „ „ Băltăceanu

Facultatea consideră opiniunile expuse în această lucrare ca proprii ale autorului și nu are a exprima, nici aprobare nici dezaprobare.

INTRODUCERE

Am făcut această lucrare din îndemnul D-lui profesor Manicatide, căruia îi mulţumesc pentru încrederea şi marea bunăvoinţă ce mi-a arătat.

Ii rămâi recunoscătoare pentru onoarea ce mi o face de a-mi prezida teza şi pentru toate indicaţiile date.

In lucrarea aceasta n'am făcut decât să adaog foarte puţin la studiul bacilului z, descris de Domnia sa în următoarele publicaţiuni, rezultat al cercetărilor întreprinse din 1895:

«Cercetări asupra Aetiologiei şi seroterapiei tusei convulsive», teză de doctorat în medicină a D-rei Aspasia Macarovitsch, prezentată la Iaşi în Iunie 1901.

«Microbul şi seroterapia tusei convulsive» studiu semnat de Domnia sa şi publicat la Iaşi în 1902.

«Ueber Aetiologie und Serotherapie des Keuchhustens», publicat în Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten» (Band 45) la Leipzig in 1903, «Der Komplementbindungsvorgang bei Keuchhusten» publicat în «Zeitschrift für Kinderheilkunde» (Band VII, Heft $^3/_4$) la Berlin în 1913.

In 1912 Savini publică în Centralblatt für Bakteriologie Parasitenkunde und Infectionskrankheiten, un studiu amănunţit al bacilului z.

Contribuţia mea constă în aflarea câtorva caracteristice ale bacilului z: extrema sa fragilitate, lipsa de desvoltare pe mediile obişnuite: agar, bulion; gradul de alcalinitate necesar creşterii sale, faptul că se desvoltă bine pe mediu cu agar glicoză.

* * *

Prezentarea acestei lucrări îmi dă prilejul plăcut să mulţumesc tuturor celor cari au contribuit la instrucţia mea.

In primul rând asigur de recunoştinţa mea corpul profesoral al Facultăţii de medicină.

Domnilor profesori V. Babeş şi Gh. Proca, expresiunea gratitudinii mele pentru deosebita onoare ce-mi fac participând la juriul tezei mele.

Mulţumiri domnilor doctori Crăciuneanu şi Băltăceanu pentru bunavoinţa de a lua parte în comisia de promoţie a tezei mele.

Eforii Spitalelor Civile pentru posibilitatea ce mi a dat să-mi întregesc cunoştinţele teoretice cu practica la patul bolnavului şi în laborator.

Domnilor asistenţi ai clinicii infantile, în special D lui dr. I. Nicolau pentru toate indicaţiile preţioase şi competente oferite cu o desăvârşită bunăvoinţă şi D-lui Dr. Stroe pentru îndemnul prietenesc ce mi l-a dat împreună cu multe indicaţii necesare.

D-rei Dr. Macarovitsch pentru interesul ce l-a purtat lucrărei mele.

D-lui Dr. I. Ciocâlteu pentru amabilitatea cu care mi-a procurat bolnavii din serviciul consultaţiunilor gratuite.

D-lui Dr. V. Gomoiu, care ne a făcut drag spitalul prin interesantele sale lecţii clinice.

Domnilor doctori V. Papilian şi D. Săvulescu, prosetori, cari cu atâta competenţă şi răbdare ne a dirijat studiul anatomiei.

Domnilor profesori Th. Ionescu, Ştefan Nicolau. D. Ionescu şi domnilor doctori Mirinescu şi Grigore Georgescu foştii mei şefi de serviciu.

D-rei doctor Virginia Alexandrescu.

Domnilor doctori Cristea, Oreviceanu, Ioan Enescu, Vasilescu-Popescu, N. Danil, G. Litareczek.

D-lui prof. Cantacuzino pentru accesul larg ce l am întâmpinat împreună cu atâţia, în laboratorul său.

D-lui doctor Ionescu Mihăieşti pentru indicaţiile sale sigure.

Domnilor doctori Ciucă şi Condrea.

Prietenie tuturor colegelor şi colegilor de studii şi de spital, în special D-rei Dr. Ştefania Speranţa Negrescu, de care mă leagă atâtea bune amintiri.

ISTORIC

Istoria tusei convulsive, necunoscută în vechime, se poate împărţi în 4 perioade.

I. Dela sfârşitul sec. XVI-lea când e descrisă de *Guillaume Baillou (Ballonius)* la 1578 sub denumirea de „quinta" sau „quintana" până la sfârşitul sec. XVII-lea (1679) când *Sydenham* descrie o tuse, pe care o numeşte „infantum pertussis quem nostrates vocant hoopingh-cough".

II. In sec. XVIII-lea tusea convulsivă e descrisă sub numele de „Tussis infantum epidemica" în teza de doctorat a lui *Antonius Guilelmus Plaz*, sub conducerea profesorului *Michael Alberti* din Halle (1728), apoi *Bassevile* în Franţa o descrie sub numele de „Tussis clangosa".

La 1749 apare o epidemie mare în Suedia, timp de 15 ani mor 43.000 de copii de tusea convulsivă.

Această epidemie e descrisă de *Rosen von Rosenstein.*

III. In sec. XIX-lea, cu descrieri clinice complete de *Billard, Blache, Guersant, Rilliet* şi *Barthez, Trousseau, Guénau de Mussy, Bouchut, Henri Roger, Cadet de Gassicourt.*

In această perioadă încep preocupările etiologice.

Aberlé la 1816 citează coincidenţa epidemiilor de pojar şi tuse convulsivă.

Rilliet, la 1859 socoteşte tusea convulsivă ca o formă a morbililor.

Germain Sée şi *Archambaut*, susţin acelaş lucru.

Rivinius şi *Linné* se gândesc cei dintâi la o insectă vie.

Poulet, 1867, găseşte în aerul expirat de bolnavi un microorganism, pe care-l consideră ca agent patogen şi îi dă numele de „monas termo", sau „bacterium bacillus".

Bintz şi *Jansen*, 1868, descriu nişte corpusculi mici cu cili vibratili.

Letzerich, 1870—74, descrie o ciupercă roşie-brună, care inoculată intra-tracheal la căţei şi iepuri de casă, ar reproduce tusea convulsivă.

Tschamer găseşte nişte ciuperci, identice cu capnodium citri, care formează colonii verzi-negricioase pe lămâi, mere, portocale stricate.

Afanassieff din Petersburg, 1887, descrie un bacil scurt, fin, mobil Elevul său, *Semtschenko*, la 1888, găseşte că acest bacil există în spută, din a IV-a zi de boală şi dispare cu quintele.

Kurloff, 1896, descrie o amoebă ciliată, identică cu cea descrisă anterior de Deichler la 1866.

Czaplewski şi *Hansel*, 1897, descriu un microb foarte mic, oval, cu extremităţile rotunjite.

Koplik, la 1897, descrie un bacil fin, pe care-l consideră identic cu cel al lui Atanassieff, îl numeşte bacilul *x*.

Spengler, 1897, descrie în al II lea şi al III lea stadiu de tuse convulsivă un bacil asemănător cu cel al influenţei.

Zusch, 1899, găseşte în mod constant în sputa a 25 de bolnavi, un bacil, care creşte bine pe bulion, nu aglutinează în prezenţa serului de bolnav, nu reproduce tusea convulsivă inoculat experimental.

Behle, 1898 descrie ca producător al tusei convulsive o amoebă sporiferă.

Livio Vincenzi, din Sassari, 1898, publică rezultatul studiilor bacteorologice, făcute cu sputa a 18 bolnavi. In 2 forme grave de tuse convulsivă, găseşte un cocobacil, care cultivat pe plăci, dă în 24 ore culturi fine, cu aparenţa veziculară, cu un punct refringent în mijloc. Acest cocobacil e imobil, mic, cu vitalitate slabă. Trans-

portat pe agar, trăeşte în lichidul de condensare numai 6 zile. Se decolorează după metoda Gram.

IV. Sec. XX *Manicatide* în 1901, publică la Iaşi, în teza de doctorat în medicină a *D-rei Aspasia Makarowitsch*, rezultatele obţinute din examinarea sputelor de tuse convulsivă şi rezultatele terapiei serice, curativ. In 1913 în „Zeitschrift für Kinderheilkunde" la Berlin, publică bunele rezultate profilactice obţinute în tusea convulsivă cu injecţii de ser. In „Zeitschrift für Hygiene und Kinderheilkunde" reacţia de fixare a complementului (cu serul bolnavului) care i-a dat un procent pozitiv de 90. In mod constant a găsit în sputa bolnavilor de tuse convulsivă, un cocobacil imobil, necapsulat, cu un pol ovoid, celalt ascuţit. Coloraţia după Gram pozitivă. Slab patogen pentru animalele de laborator în genere, cele tinere reacţionând mai bine totuşi ca cele adulte. Puiul de şoarece alb moare cu septicemie. Receptivitate mai mare la oaie, la care a putut reproduce tusea. Imunizată, serul ei a fost întrebuinţat în injecţii la copii curativ, şi profilactic.

Iochmann şi *Krause*, dela spitalul Eppendorf din Hamburg, descriu un bacil mic, ovoid, imobil, crescând ca picătura de rouă pe agar-sânge, decolorează după metoda Gram, prezintă coloraţiune polară, greu de transplantat chiar după 4 zile. Acesta a fost găsit de 3 ori, în cultură pură, în focarele de bronchopneumonie după tusea convulsivă; n'a fost găsit în bronchopneumonii de altă natură.

Nepatogen la animale.

Leuriaux din Bruxelles, descrie un bacil de mărimea colibacilului, ovoid, cu extremităţile rotunzite, cu mobilitate foarte aparentă, colorându-se după metoda Gram. Microbul e patogen pentru iepuri, producând în 48 ore, în injecţie subcutană un abces mare cu puroi gros.

J. Bordet şi *O. Gengou* din Bruxelles, în 1906, publică găsirea în sputa de tuse convulsivă, a unei mici bacterii ovoidă, de lungime inegală, apărând după coloraţie cu toluidină sau albastrul lui Kühne, cu extremi-

tăţile colorate, cu centrul palid; alteori în formele alungite, apare şi un punct central colorat, ca o despărţitoare între cele două jumătăţi a bacilului.

Aciliat, asporogen.

Elementele apar izolate, sau cap la cap. Coloraţia după metoda Gram negativă.

E necultivabil pe mediile obişnuite: bulion, gelatină, agar. Reacţia de aglutinare inconstantă. Reacţia de fixare a complementului pozitivă la vindecaţi. Seroterapia cu rezultate neprecise, în unele cazuri favorabilă scăzând numărul quntelor şi părând că grăbeşte vindecarea.

Tehnica izolării bacilului z

La sfârşitul unui acces de tuse, spontan sau provocat, se culege sputa, de preferinţă din faringe direct, cu ajutorul unui tampon de vată sterii, montat pe o tije de lemn. Sputa exceptorată de bolnav şi culeasă într'un vas se încarcă în trecerea sa prin cavitatea bucală de alţi microbi, saprofiţi, făcând izolarea bacilului z foarte dificilă.

Odată sputa culeasă trecem tamponul încărcat într'o primă eprubetă cu apă peptonată; aci, după ce sputa s'a desprins de tampon, o agităm în apa peptonată cu ajutorul unei anse de platină, 2—3 minute.

Fragmentele de mucus astfel spălate, sunt trecute succesiv într'o serie de 2 - 3 alte eprubete cu apă peptonată, unde sunt supuse aceleiaşi operaţii ca în prima eprubetă.

Această spălare ne ajută să debarasăm sputa de agenţii banali, cari fac grea izolarea b. z. dintr'o placă cu colonii prea dese.

Un fragment de mucus luat din ultima eprubetă e depus cu ajutorul ansei de platină pe suprafaţa unei plăci de agar şi plimbat în urme paralele; cu acelaş fragment, reînsămânţăm alte 2—3 plăci, până la epuizarea lui.

Se pun plăcile la termostat la 37^0, se lasă 24, preferabil 48 ore, când se procedă la examinarea culturilor macro-şi microscopic.

Din coloniile suspecte se fac preparate uscate, colorate după metoda Gram, examinându-se din fiecare placă 20—40 colonii.

Recunoaşterea coloniilor

In primele 24 ore coloniile de bacil z apar ca nişte puncte fine, abia vizibile.

După 48 de ore ele ajung de mărimea unei gămălii de ac, bombate, translucide, albe-albăstrii ca opalul.

Privite cu o lentilă măritoare dau impresia unor flocoane de vată.

Pe mediu cresc răzleţe, extinderea lor se face foarte încet, cu creştere excentrică la început, apoi centrală, ceeace schimbă cu totul aspectul culturei.

După 7—8 zile, centrul apare mult mai ridicat ca marginile, alb, opac: marginile rămân translucide, albăstrui, ca o fină peliculă circulară, astfel că aspectul coloniei privită de deasupra, e al unei pălării.

Un caracter constant al lor e aderenţa la mediu atât de pronunţată, încât pentru reînsămânţare trebue raclat insistent cu ansa.

Mai totdeauna colonia se ridică în întregime.

Mediile de cultură pe care s'au făcut însămânţări

In decursul cercetărilor, având nevoe de culturi mai abundente, am căutat mediul cel mai favorabil desvoltărei acestui bacil.

Pentru cercetările anterioare, cultivarea bacilului z se făcuse pe mediu de agar simplu $3^0/_0$ şi în bulion peptonat.

Alcalinitatea mediului întrebuinţat trebue să fie între 8—8,1 ; în mediu cu alcalinitate obişnuită 7,7 se dezvoltă greu, moare repede.

Pe mediu simplu de agar $3^0/_0$, în condiţiunile de alcalinitate date, dezvoltarea în primele 24 de ore e foarte redusă, ceva mai abundentă în 48 de ore.

Din a 3 a a 4-a zi desvoltarea după fiecare trecere

e mai slabă şi după 7 — 8 însămânţări orice creştere încetează.

In bulion peptonat desvoltarea e foarte slabă, creşterea egală în tot bulionul ; după 2 — 3 săptămâni nu se observă nici peliculă la suprafaţă, nici depozit la fundul balonului.

Bulionul nu e acidificat.

Voind să-i încerc creşterea pe un mediu bogat în substanţe albuminoide, l'am însămânţat în eprubete cu ser uman agar $^1/_3$.

In primele 24 de ore dela însămânţare, creşterea pe acest mediu e abundentă, coloniile sunt mai dese şi mai mari ca cele de pe agar simplu.

După 48 ore reînsămânţat pe acest mediu, în alt tub, creşterea devine anevoioasă, coloniile sunt rare şi mai mici ; după 4—5 reînsemânţări creşterea încetează complect.

Aceste culturi trecute după 48 de ore din mediul ser agar pe agar simplu, se desvoltă mai greu ca obişnuit în primele 48 de ore, a 3-a a 4-a zi încetează orice desvoltare.

Reînsemânţate pe ser agar, creşterea nu se mai produce. Pentru mediul cu sânge uman-agar $^1/_3$, se observă acelaşi ciclu de desvoltare.

In jurul coloniilor desvoltate pe mediu cu sânge în primele 24 de ore, se observă o zonă palidă, decolorată.

Cel mai bun mediu pentru creşterea bacilului z, s'a arătat mediul de agar-glicozat $1^0/_0$, la 8 (p. h.)

In acest mediu dezvoltarea bacilului z se face abundentă din primele 24 de ore, se menţine astfel timp îndelungat, câteva luni până la un an, cu condiţia să facem reînsemânţarea, cel mai târziu la 7 zile.

Mediul întrebuinţat trebue să fie proaspăt preparat, sursele ţinute la o temperatură medie de 17^0—22^0, ferite de uscăciune (tuburile foarte bine închise spre a se evita evaporarea) şi ferite de lumină.

Temperatura optimă pentru desvoltare 36^0 - 38^0.

Moare la 41^0—42^0, moare la —10^0.

Foarte sensibil la vapori de formol, fenol, iod, gaz de luminat.

Morfologie

Cocobacil mic, cu un capăt rotunjit, celălalt ascuţit. Imobil, inegal. N'are capsulă nici flageli.

Prezintă foarte rar 1-2 corpusculi la extermităţi, ce după o decolorare mai îndelungată nu ţin Gram, din care cauză unii bacili par inegal coloraţi.

In frottis-urile din spută se prezintă adesea singur, apoi în V sau accent circumflex, doi câte doi, paralel ca semnul egal, ori în palissadă.

In culturile proaspete aceiaşi aşezare ca în spută, în cele vechi se observă şi aşezarea în lanţuri scurte 5—8 indivizi cel mult; aceste lanţuri au formă de segmente de cerc, aşezate mai des izolat, mai rar în continuare şi anume primul cu concavitatea în jos, al doilea cu concavitatea în sens opus, al treilea ca primul.

Foarte rar numărul acestor segmente trece de 3, privite în totalitatea lor apar ca contururi de valuri.

O altă caracteristică a acestor culturi vechi sunt formele de involuţie: rotunjite, inegale, inegal colorate, foarte des cu extremităţile colorate în roşu după Gram, apoi formele cu un capăt mult îngroşat şi turtit, dând bacilului aspectul unui ciocănaş sau al unei ciuperci.

Se colorează repede şi bine cu toate culorile bazice de anilină, se colorează bine cu fucsină diluată. Unii bacili după decolorare au extremităţile colorate în roşu, chiar în culturi proaspete. In culturile vechi, mulţi din ei pierd cu totul Gram.

Gram facultativ.

OBSERVAȚIUNI

Majoritatea cazurilor de tuse convulsivă, a căror spută am cercetat-o pentru izolarea bacilului z, sunt culese de la serviciul consultațiunilor gratuite medicale ale spitalului de copii. Socotim zilele de boală de la începutul fazei convulsive.

N'am putut avea cazuri în faza cataralâ.

Observațiunea I. — Florica M. în vârstă de 11 ani, vine la serviciul consultațiunilor gratuite pentru tuse în accese.

Bolnavă de 7 zile, afebrilă.

Pulmonar prezintă câteva raluri sibilante d seminate în ambii pulmoni, ușoară modificare respiratorie la vârful stâng.

I se provoacă un acces de tuse convulsivă, în timpul căruia prezintă cianoză, oedem palpebral, hyperemie conjunctivală.

N'are ulcerații sublinguale, nu varsă.

La sfârșitul accesului expectorează o cantitate mare de mucus filant, care se culege cu un tampon de vată steril.

Se spală un fragment din acest mucus în apa peptonată, se însămânțează pe placă de agar, se fac preparate uscate, colorate după metoda Gram. Se găsesc celule epiteliale plate, mono-și polinucleare cu predominența ultimelor.

Flora microbiană formată din bacili pseudodifterici, pneumococi, streptococi, bacil z.

Nu se izolează bacil z.

Observaţiunea II. — Maria P. trei ani. Până acum două săptămâni a tuşit discret, mai mult noaptea, fără să expectoreze. De 2 săptămâni are tuse în accese, cu predominenţa nocturnă, însoţite de cianoză, urmate de expectoraţie abundentă, vărsături.

Din cauza aceasta nu doarme, nu se alimentează, slăbeş e. Subfebrilă.

La percuţie pulmonară nimic deosebit, la auscultaţie în ambii pulmoni raluri ronflante şi sibilante diseminate.

Are un acces de tuse neprovocat.

Expectorează abundent la sfârşitul accesului, spută mucoasă, filantă.

Procedându-se la examinarea sputei, se găseşte în preparatul uscat streptococul, pseudodiftericul, o levură bacilul z. Din însămânţarea pe plăci de agar se izolează în 7 zile bacilul. E trecut în tuburi de agar înclinat; moare după a 7-a reînsămânţare.

Observaţiunea III. — Costică P. trei ani. Vine în spital la serviciul consultaţiilor gratuite pentru tusă persistentă, slăbire.

Mama sa spune că copilul a avut acum o lună jumătate o tusă uşoară la început, 4—5 zile, care s'a accentuat în urmă, venind în accese, până la 10—15 pe zi, în timpul cărora se învineţea, i se umfla faţa, se înneca; acest acces se termina regulat cu vărsături alimentare.

Accesele sunt acum rare, nu mai sunt urmate de vărsături. Percuţia şi auscultaţia nu denotă nimic anormal. I se provoacă un acces de tuse. Accesul e scurt, format numai de 2 până la 4 reprize, separate de mişcări inspiratorii mici. Se culege din faringe un mic fragment mucos clar. În frotţis-uri se găsesc rare polinucleare, flora microbiană foarte discretă, formată din pseudodifterici, rari streptococi. Nu se găseşte bacilul z.

Observaţia IV. — Eglantia I. un an şi şase luni. Primită în serviciul medical al Spitalului de copii pentru tuse

convulsivă, bronchopneumonie. Febrilă, 38^0-39^0. Faţa bouffie, pleoapele oldematiate, conjunctivele hyperemiate, ulceraţii a frenului limbei. De 2 săptămâni are fierbinţeli noaptea, a tuşit la început 5-6 zile, câte puţin De 8 zile tuşeşte în accese mari, cu câte 7-8 reprize, întrerupte de inspiraţie profundă şi zgomotoasă.

Se cianozează. Varsă după fiecare acces. Focar de bronchopneumonie în pulmonul drept. Are accese dese aşa că nu e nevoe să-i provocăm tusea. Sputa e ridicată cu un tampon, direct din faringe, la sfârşitul accesului. E de aspect mucos, vâscoasă.

Se însămânţează în plăci cu agar, se fac frottis-uri. Se găsesc foarte multe polinucleare, cu nucleul intact, celule epiteliale plate. Ca floră: pneumococ, streptococ, bacil z. Se izolează bacilul, z se menţine 2 săptămâni.

Observaţiunea V. — Florica I. în vârstă de 3 luni jumătate. Tusea convulsivă de 6 zile, coryza. Faţa şi pleoapele umflate, conjuctivele hyperemiate.

Accesele sunt foarte dese, lungi, însoţite de convulsii ale membrelor, urmate de vărsături. Se culege sputa cu un tampon din faringe. Aceasta e mucoasă, clară, filantă. In preparatul uscat din spută se găsesc frequente leucocite mono şi polinucleare, cu predominenţa celor din urmă, multe celule epiteliale plate.

Flora foarte abundentă, mixtă.

Se găsesc mulţi diplococi intracelulari Gram negativi asemănători cu meningococul, diplococul cataral, streptococul, bacilul fânului, abundent bacil z intra şi extracelular.

Cu toată flora abundentă, din sputa însămânţată pe placă de agar-glicoză, cresc foarte multe colonii mici albăstrui de bacil z, care se izolează. Acest bacil trăeşte însămânţat pe agar-glicoză de la 25 Mai 1922 până la 23 Martie 1923.

Observaţiunea VI.—Sputa procurată de la un bolnav din oraş, (adusă de D-ra Doctor Macarovitsch). E ţinută într'un vas steril 12 ore înainte de a fi însămânţată. Bolnavă de 4 zile, accese tipice. Subfebrilă. Sputa de aspect

granulos. In preparatul uscat, colorat după metoda Gram, se găsesc frequente leucocite. Flora microbiană foarte abundentă şi variată : pneumococ, diplococ cataral, streptococ, tetragen, un bacil mare, gros, Gram pozitiv, bacilul z.

Se ia un fragment granulos din spută, se spală mai mult ca de obicei în apa peptonată, se însămânţează pe placă cu agar glicozat.

In 24 de ore obţinem culturi foarte abundente cu coloniile foarte apropiate; din această cauză nu se poate face izolarea bacilului z.

Observaţiunea VII. — Ştefan C. de 4 ani, vine la serviciul consultaţiunilor gratuite pentru tuse.

Tuşeşte convulsiv de 3 zile; accese dese, urmate de vărsături. Spută clară, mucoasă.

In frottis rare leucocite, în majoritate polinucleare, flora microblană discretă : pneumococ, strepto oc, diplococ cataral, bacil z. Se însămânţează pe placă de agar glicozat. Se izolează. Moare după 3 luni de la izolare.

Observaţiunea VIII. — Zoica M. cinci ani. Vine în serviciul Consultaţiunilor gratuite pentru tuse în accese prelungite, (5 — 10 reprize urmate de vărsături.) Faţa bouffie, pleoapele oedematiate, conjunctivele hyperemiate. Sputa puţin abundentă, mucoasă, clară. Pe preparatul uscat leucocite în majoritate polinucleare, flora abundentă formată din streptococ, bacil pseudodifteric, un bacil fin Gram negativ, bacilul z.

Insămânţarea e urmată după 24 ore de o dezvoltare mare de colonii diverse, foarte apropiate unele de altele. Recunoaşterea coloniilor fine de bacil z e foarte anevoioasă. Nu se poate face izolarea.

Observaţiunea IX. — Nicu C. în vârstă de 3 ani, e adus la serviciul consultaţiunilor gratuite, pentru tuse perzistentă, care survine în accese, urmate de vărsături.

Această tuse o are de 8 zile.

Se culege sputa în urma unui acces provocat.

In preparatul uscat din spută se găsesc frequenţi bacili z, rari pneumococi, diplococi cataralı şi pseudodifterici.

Cultură cu colonii rare în 48 de ore.

Se izolează bacilul z

Observaţiunea X — Ioana T. un an şi jumătate (sifilis congenital ?) Tuse convulsivă în accese scurte, rare, datează de 12 zile.

In preparatul uscat multe leucocite mono-şi polinucleare, foarte mulţi diplococi catarali, un bacil fin Gram pozitiv, nu se găseşte bacil z.

Se însămânţează pe placă de agar glicozat.

Nu se găseşte bacil z.

	Zile de boală	Prezenţa b. z.	Izolare
Obs.	I 7 zile	—	—
»	II 2 săptămâni	—	+ după 7 reînsmânţării
»	III 1 lună şi $^1/_2$	—	—
»	IV 5—6 zile	—	+ după 2 săptămâni
»	V 6 zile	—	+ după 10 luni
»	VI 4 zile	—	—
»	VII 3 zile	—	+ după 3 luni
»	VIII ?	—	—
»	IX 8 zile	—	+ după 20 zile
»	X 12 zile	—	—

Există un raport strâns între numărul zilelor de boală şi prezenţa bacilului z şi anume: Cu cât ne apropiem mai mult de începutul fazei convulsive, cu atât prezenţa lui e mai frequentă şi izolarea mai uşoară.

Intervalul cel mai favorabil pentru însămânţarea sputei mi-a părut să fie cuprins între prima zi a fazei convulsive, până la a 14 a.

Reacţia de fixare a complementului

Incercând cu serul bolnavilor de tuse cunvulsivă reacţia de fixare a complementului Bordet-Gengou am găsit-o pozitivă, începând din a şasea săptămână a boalei.

Din observaţiile prezintate în această lucrare s'a făcut această reacţie în cazul I la care a fost negativă, în cazul III, la care reacţia a fost pozitivă.

Felul cum s'a făcut reacţia în cazul acesta e următorul :

I	0,1 ser bolnav	+ 0,1 antigen	Hemoliza completă
II	0,1 » »	+ 0,2 »	Ușoară împiedicare a hemolizei
III	0,1 » »	+ 0,4 »	» » » »
IV	0.1 » »	+ 0,6 »	Împiedicare accentuată a hemolizei
V	0,1 » »	+ 0,8 »	» » » »
VI	0,1 » »	+ 1 c.m.c. antigen	» aproape completă a hemolizei

I	0,2 ser	+ 0,4 antigen	Ușoară împiedicare a hemolizei.
II	0,2	+ 0,6	Ușoară împiedicare a hemolizei mai accentuată ca în I
III	0,2 «	+ 0,8 »	Impiedicare completă a hemolizei.

Control: I Doza maximă de ser întrebuințată + alexină + + sistem hemolitic=hemoliza totală
II Doza de alexină întrebuințată hemolizează complet.

Controlul cu antigen şi cu ser normal n'a dat niciodată împiedicare de hemoliză. Recoltând serurile de cercetat tot din clientela consultaţiunilor gratuite şi întâmpinând rezistenţă din partea mamelor micilor bolnavi, numărul acestor cercetări e numai de 8. Dintre acestea 6 au fost pozitive.

Reacţia de aglutinare

In privinţaa glutinărei bacilului z cu serul bolnavilor, n'am putut avea nici un rezultat. Pe nici unul din mediile întrebuinţate n'am obţinut o cultură pe care s'o putem emulsiona homogen.

Coheziunea dintre microbi e aşa mare încât nici prin emulsionare directă cu ansa, nici prin spălări succesive în ser fiziologic şi centrifugare, n'am putut prepara o suspensiune cu indivizi separaţi.

Invariabil controlul avea aspectul unei aglutinări cu flocoane mici. (Aglutinare spontană).

Inoculări experimentale, prepararea imunserului

Cercetările experimentale le-am făcut la şoarece alb, iepure, oaie.

Pentru inoculare la iepure am întrebuinţat calea intravenoasă, în vena marginală a urechei, pentru şoarece alb şi oaie, calea subcutanată.

Prepararea emulsiei de bacil s'a făcut în acelaşi mod

pentru fiecare dintre animale: s'a însămânţat cât mai bogat un tub de agar glicoză înclinat, după 24 de ore s'a adăogat 5 c. m. c. ser fiziologic şi s'a agitat îndelungat.

I. Iepurele adult s'a arătat aproape neinfluenţat de injecţie. O uşoară ridicare de temperatură, imediat după aceasta, e tot ce am observat.

Aceasta ridicare de temperatură durează 2—3 ceasuri.

Temperatura matinală, a doua zi după injecţie, invariabil normală.

II. Experienţele pe şoareci albi trebuesc refăcute.

III. Oaia de 10 luni cântărind 19 kilograme, i se injectează sub piele în unul din flancuri (după ce i se ia temperatura 2 zile înainte).

		Dim.	12 h.	Seara
La 10 Oct.	temp.	38°,9	39°,2	39°,1
« 11 «	«	39°	39°	39°
« 12 » I inj. 2 c. m. c.	«	39°	39°,7	40°,8
« 13 «	«	40°	39°,5	40°,5
« 14 «	«	40°,2	39°,9	40°
« 15 «	«	39°,9	39°,8	40°
« 16 «	«	39°,5	39°,5	39°,3
» 17 « II-a inj. 4 c. m. c., pulverizare în	«	39°,1	40°	40°,5
« 18 « faringe cu 2 c. m. c.	«	39°,9	39°,7	40°

Oaia nu se hrăneşte, nu bea, şade culcată, indispusă.

« 19	«	38°,8	38°,2	39°,7

Apare catar nazal.

« 20 «	«	38°,6	39°,2	39°,9
« 21 «	«	38°,9	39°	38°,7

Catarul nazal se menţine, apare tuse.

La 22	39°,8	39°,4	39°,9
23	39°,2	39°	39°,5
24	39°,1	39°,3	39°,6

Oaia începe să se ridice, să mănânce, tusea şi catarul dispar.

La 25	39°,2	38°,6	39
» 26	38°,2	38°,9	39°
» 27 III-a inj. cu 1 c. m. c. jumătate	38°,5	39°,9	40°,7
» 28	40°,4	40°,2	40°,6

	29		40°	39°,8	39°,7
La	30	Oct.	38°,5	39°,4	39°,7
	31		38°,9	39°	39°
La	1	Noemb.	39°,6	39°	39°,7
	2		38°,8	39°,1	39°,3
»	3		39°	39°,2	39°,5
	4		38°,9	39°	39°
»	5		39°,1	38°,9	39°,2
	7		39°	39°	39°,1
	6		39°	39°	39°,1
	8	IV-a inj. cu 1 c. m. c. jum.	39°	39°	40°,4
	9		39°	39°	39°,1
»	10		38°,9	39°,1	39°,2
	11		39°	38°,8	39°,1
»	12	V-a inj. cu 1 c. m. c.	39°	39°,8	39°
	13		38°,8	38°,8	39°
	14	VI-a inj. cu 1 c. m. c.	39°	40°	39°,1
»	15		39°,4	39°,8	39°
	16		38°,8	39°	39°
»	17	VII-a inj. 1 cm. jum.	39°	39°,9	40°
	18		39°,4	39°,6	39°,8
	19	VIII-a inj. cu 1 cm. jum. 3 cmc. emulsie în cav. bucală	39°	38°,8	39°
	20		39°	39°,2	39°,9
»	21		40°	39°,7	40°,2
»	22		39°,9	39°,2	40°
	23		39°,7	39°	39°,6
	24		39°,6	39°	39°,7
	25		39°,5	39°	39°,7
	26		39°,4	39°,2	39°,5
	27		39°,2	39°	39°,4
	28		39°,1	39°	39°,2
	29		39°,1	39°	39°,1
	39		39°	38°,8	39°,1
»	1		38°,8	39°,1	39°
	2	IX inj. cu 4 cmc. emulsie	38°,8	39°,1	40°
»	3		40°	39°,9	40°,2
	4		39°,9	39°,4	40°
	5		39°,8	39°,4	39°,9
	6		39°,4	39°	39°,7
	7		39°,9	40°,1	40°,3
	8		39°	38°,6	38°,9

Proprietăţile serului imunizant.

Cu serul oaiei astfel preparat s'a încercat 1-iu reacţia de aglutinare.

Aci, ca şi pentru serul bolnavului, am întâmpinat aceiaşi dificultate: imposibilitatea să obţin o emulsie perfect homogenă, controlul apărând totdeauna cu bacilii în mici flocoane.

II. S'a luat o cantitate mai mare de sânge, din vena jugulară a oaii, s'a lăsat să stea, după o uşoară centrifugare, 24 ore, într'o epubretă înaltă şi de calibru mic.

După 24 de ore s'a culeş cu o pipetă leucocitele, care au fost spălate cu ser fiziologic prin centrifugare, de 3—4 ori.

O picătură din aceste leucocite puse în prezenţa unei picături de emulsie de bacil z, n'au arătat nimic deosebit.

O cantitate egală de leucocite, de emulsie de bacili z, o gută de ser de oaie, lăsate un sfert de ceas la termostat la 37^0 şi privite apoi între lamă şi lamelă ne-a prezentat următorul aspect: majoritatea leucocitelor fagocitaseră un număr variind între 3—5 de bacili şi faţă de cei rămaşi nefagocitaţi acestea exercitau chimiotactism pozitiv net, aceştia fiind atraşi ş'apoi înglobaţi încetul cu încetul (preparat proaspăt).

Adăogând în locul serului de oaie o gută de ser de sugar ori o gută de ser de adult normal, acest fenomen nu se observă.

III. In trei tuburi însămânţate proaspăt cu bacil z, adaog succesiv în primul câte-va picături de ser de oaie, în al II-lea câteva picături de ser de adult sănătos, în al III-lea câte-va picături ser de sugar. In 24 de ore cele 3 tuburi arată o egală dezvoltare de colonii, după 48 ore desvoltarea în tubul prim e mai scăzută.

După 4 zile dela însămânţare se face un preparat uscat din fiecare tub; în 2 şi 3 bacilul z e neintluenţat, cel din 1 arată forme de involuţie rotunjite, inegale, inegal colorate, mulţi microbi pierzând uşor Gramul.

CONCLUZIUNI

1. Bacilul z se găseşte constant în sputa bolnavilor de tuse convulsivă din prima zi a fazii convulsive până la a 14-a zi.

2. E slab patogen pentru animalele de laborator.

3. Reproduce tusea la oaie, dar nu am observat accese tipice.

4. Serul convalescenţilor, dela a 6 a săptămână de boală dă reacţia de fixare a complementului Bordet-Gengou în 70% din cazuri.

5. Leucocitele spălate puse în prezenţa serului imunizant arată o putere mare de fagocitare.

6. Serul de animal imunizat adăogat unei culturi proaspete de bacil z, produce în câteva zile forme de involuţie ale acestuia.

Văzută şi bună de imprimat.

Preşedintele Tezei: (ss) Prof. Dr. M. MANICATIDE.

Decanul Facultăţii: (ss) Prof. Dr. THOMA IONNESCU

BIBLIOGRAFIE

— *Annales de l'Institut Pasteur.* 1906 XX 731—734.

— *Brouardel & Gilbert.* Tome IX 1908 (Hudelo).

— *Barthez, Rilliet.* Traité clinique et pratique des maladies des enfants Tome II 1854.

— *Comby.* Traité de maladies de l'enfance.

— *Hutinel Tome I.* Traité de maladies des enfants.

— *Manicatide M.* Microbul şi seroterapia tusii convulsive 1902.

— *Manicatide M.* Ueber Aetiologie und Serotherapie des Keuchhusten.

Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten Band 45 Taf VIII 1903 Leipzig.

— *Manicatide M.* Komplementbindungsvorgang bei Keuchhusten. Zeitschrift für Kinderheilkunde Band VII Heft $^3/_4$ Berlin.

— *Roger, Widal, Teissier.* Nouveau traité de médecine Fascicule II Pag. 424 P. Londe.

— *Savini und Therese Savini-Castano.* Centralblatt für Bakteriologie Parasitenkunde und Infectionskrankheiten.

Beitrag zür experimentellen Biologie de Z-Bacillus und seiner Beziehung zum Keuchhusten. *Originale* Erste Abt. B. 57 1911 Pag. 449.